

Корисна модель належить до медицини, зокрема до технології одержання лікарських засобів, до хіміко-фармацевтичної, косметичної та харчової промисловості, зокрема до способу одержання засобу у формі розчину для внутрішнього застосування з антиоксидантною дією на основі екстракту плодів граната.

На сьогодні наукова спільнота встановила, що розвиток серцево-судинних, метаболічних, нейродегенеративних та онкологічних захворювань пов'язаний з окислювальним стресом [1]. Окислювальний стрес - це стан організму, при якому відбувається надмірне утворення активних форм кисню (АФК), таких як супероксид (O^{2-}), гідроксильний радикал ($OH^{\cdot}$) та монооксид азоту ($NO^{\cdot}$) [2]. Організм людини має власну антиоксидантну систему, яка складається з таких ферментів: супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза [3]. Однак через ендogenous або екзогенні впливи антиоксидантна система не завжди здатна повністю інактивувати вільні радикали, тим самим збільшуючи ризик розвитку вищезазначених захворювань. Тому споживаються природні антиоксиданти, що містяться в їжі, а також спеціальні продукти харчування та ліки додаються до щоденного раціону для підтримки антиоксидантної системи [4].

Одними з найактивніших природних антиоксидантів є антоціани. Антоціани належать до родини флавоноїдів, дані сполуки є природними водорозчинними пігментами, що відповідають за інтенсивні червоні та сині кольори різних рослин. Структурно всі антоціани мають ідентичний флавоноїдний скелет C6-C3-C6, який також називають 2-феніл-бензопірилієвим катіоном, даний скелет складається з двох ароматичних кілець (А та В), з'єднаних С-кільцем з двома подвійними зв'язками, який має позитивний заряд. [5]

Хімічно антоціани мають глікозидну структуру, пов'язану з агліконом, антоціанідіном. Глікозиди, що поєднують одну або декілька цукрових груп в агліконах, можуть забезпечити стабільність та водорозчинність молекул, тому антоціанідини рідко зустрічаються в природі у формі агліконів. Найпоширенішими цукровими фрагментами, які переважно зв'язані з молекулою в положенні С3 С-кільця або в положенні С5 або С7 А-кільця, є глюкоза; проте також можуть зустрічатися галактоза, арабіноза, рамноза та ксилоза. [6]

Головним джерелом антоціанів є плоди рослин, такі як полуниця, ожина, малина, гранат. Загалом антиоксидантна активність антоціанів обумовлена двома механізмами: переносом атома водню і переносом одного електрона. Антиоксидантна активність антоціанів залежить, перш за все, від їх агліконів. У реакціях з окислювачами антоціанідини перетворюються на ароксильні радикали, які порівняно стабільніші завдяки резонансу, ніж вільний радикал, який вони відновили. Кінцевий результат антиоксидантної дії антоціанів включає припинення окислювальної реакції [7].

Гранат (*Punica granatum* L.) - це плодоносне листяне дерево родини *Lythraceae*, вирощування якого здійснюється в регіонах з теплим кліматом, таких як Південний Кавказ, Закавказзя, Південна та Центральна Азія, а також у Середземномор'ї [8].

Хімічний склад шкірки представлений елаготанінами, катехінами, флавоноїдами, тоді як плоди містять переважно антоціани та органічні кислоти. Відповідно до останніх досліджень було встановлено, що гранат містить у своєму складі наступні види антоціанів: ціанідин-3-О-глюкозид (38,98 % от суми всіх антоціанів), пеларгонідин-3,5-О-диглюкозид (19,49 % от суми всіх антоціанів), дельфінідин-3,5-О-диглюкозид (17,80 % от суми всіх антоціанів), ціанідин-3,5-О-диглюкозид (11,86 % от суми всіх антоціанів), пеларгонідин-3-О-глікозид (7,20 % от суми всіх антоціанів) і дельфінідин-3-О-глюкозид (4,66 % от суми всіх антоціанів). [9]

Відомий спосіб отримання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю з листя винограду сорту Дабуш [10], що включає екстракцію сировини 50 % спиртом етиловим, при співвідношенні сировина екстрагент 1:10 з подальшим упарюванням, фільтрацією, ресорбцією фенольних сполук з осаду водою, упарюванням і сушінням.

До недоліків відомого способу можна віднести однократну екстракцію, яка не дозволяє досягнути максимального витягу із сировини поліфенольних сполук.

Існує спосіб отримання комплексу біологічно активних речовин у формі сухого екстракту з противиразковою, протизапальною та мембраностабілізуючою дією з листя ліщини звичайної або грабу звичайного [11] шляхом триразовою екстракцією водою при температурі 50-60 °С при співвідношенні сировини до екстрагенту (1:10) - (1:15) протягом 4 - 5 годин.

До недоліків відомого способу можна віднести тривалість процесу та недостатню антиоксидантну дію засобу.

Відомий спосіб отримання засобу [12], що володіє антиоксидантною дією, в якому подрібнене листя зеленого чаю, екстрагують двократно хлороформом, потім 60 % спиртом етиловим у співвідношенні сировина екстрагент 1:10-1:20, очищають і упарюють до співвідношення кількості екстракту до сировини 1:2.

Недоліком даного способу за прототипом можна вважати використання хлороформу, що ускладнює, здорожує процес отримання екстракту.

Задачею корисної моделі є розробка способу одержання засобу у формі розчину для внутрішнього застосування з антиоксидантною дією на основі екстракту плодів граната.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб одержання засобу у формі розчину для внутрішнього застосування з антиоксидантною дією на основі екстракту плодів граната, що включає екстракцію рослинної сировини, згідно з корисною моделлю, відважують плоди граната, пресують сировину, додають 96 % етанол у трикратній кількості до витягу, фільтрують, концентрують фільтрат у 10-20 разів у вакуум-випарному апараті при температурі 50-60 °С, відважують розраховану кількість L-аргініну, L-цитруліну, міо-інозиту, бетаїну, до екстракту плодів граната додають поступово, постійно помішуючи, L-аргінін, L-цитрулін, міо-інозитол, бетаїн і воду очищену до одержання однорідної суміші, розчин для розчину для внутрішнього застосування включає наступне співвідношення компонентів, мас. %: бензоат натрію - 0,1-0,2, бетаїн - 0,5-5,0, лимона кислота - 0,5-5,0, L-цитрулін - 0,5-5,0, L-аргінін - 1,0-5,0, міо-інозитол - 1,0-5,0, екстракт плодів граната - 20,0-70,0, вода очищена - до 100,0.

Засіб у формі розчину для внутрішнього застосування з антиоксидантною дією одержують наступним чином: відважують плоди граната, пресують сировину, додають 96 % етанол у трикратній кількості до витягу, фільтрують, концентрують фільтрат у 10-20 разів у вакуум-випарному апараті при температурі 50-60 °С, відважують розраховану кількість L-аргініну, L-цитруліну і міо-інозиту, до екстракту плодів граната додають поступово постійно поміщуючи L-аргінін, L-цитрулін, міо-інозитол, бетаїн і воду очищену до одержання однорідної суміші. Одержаний розчин для внутрішнього застосування фасують у саше. Одержаний засіб має умовну назву "Аргіклін"

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. Відважують 1000 кг плодів граната, пресують сировину, додають 1500 л 96 % етанолу, у трикратній кількості до витягу, фільтрують, концентрують фільтрат у 10-20 разів у вакуум-випарному апараті при температурі 50-60 °С, відважують 10,0 г L-аргініну, 5,0 г L-цитруліну і 10,0 г міо-інозиту, 5,0 г бетаїну, 5,0 г лимонної кислоти, 0,2 г бензоату натрію до екстракту плодів граната додають поступово, постійно помішуючи, бензоат натрію, L-аргінін, L-цитрулін, міо-інозитол, бетаїн, лимонну кислоту і воду очищену до одержання однорідної суміші. Одержаний розчин для внутрішнього застосування фасують у саше.

Приклад 2

Для теоретичної оцінки антиоксидантної активності об'єкта дослідження, нами було проведено молекулярний докінг основних антоціанів соку плодів граната: ціанідин-3-О-глюкозид (38,98 % от суми всіх антоціанів), пеларгонідин-3,5-О-диглюкозид (19,49 % от суми всіх антоціанів), дельфінідин-3,5-О-диглюкозид, а також L-аргініну, L-цитруліну і міо-інозиту. Для проведення цього дослідження було використано комп'ютерну програму Autodock 4.2 MGL Tools [13]. Для дослідження антиоксидантної активності були вибрані ряд ферментів - нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат-оксиредуктазу (НАДФН-оксиредуктазу) (PDB ID: 5o0x), фермент мієлопероксидазу (PDB ID: 3f9p), та фермент ксантин-оксиредуктаза (PDB ID: 1fiq) дані структури ферментів були взяті з банку даних білка (БДБ) [14]. За допомогою Computed Atlas for Surface Topography of Proteins [15] були визначені амінокислоти в активному центрі ферменту відповідних за його інгібування. Для дослідження було взято ціанідин-3-О-глюкозид (CID_197081), пеларгонідин-3,5-О-диглюкозид (CID_167642), дельфінідин-3,5-О-диглюкозид (CID_155902950), L-аргінін (CID_6322), L-цитрулін (CID_9750), диклофенак натрію (CID_5018304), мелоксикам (CID_54677470), напроксен натрію (CID_23681059), ібупрофен (CID_3672), епігалокатехін-3-О-галат (CID_65064), 3D - структура даних сполук були взяті з PubChem [16]. Комп'ютерною програмою Autodock 4.2 MGL Tools була використана для оптимізації структури ферментів шляхом видалення води, зайвих атомів, і додавання водневих груп. Потім AutoGrid визначило нативне розташування ліганду для зв'язування з активним центром ферменту шляхом розхолодження координати сітки (X, Y і Z). Зв'язування ліганду з ферментом проводили шляхом регулювання параметрів генетичного алгоритму (ГА), використовуючи 10 запусків критеріїв ГА. Для оцінки ефективності рівня зв'язування були використані наступні показники E (Енергія зв'язку, ккал/моль) і IC50, (концентрація речовини, яка інгібує 50 % ферменту, ммоль). У випадку показника E, чим менше значення, тим краще зв'язок між лігандом і ферментом.

За стандарти антиоксидантної активності взято такі препарати: епігалокатехін-3-О-галат, індометацин, целекоксиб, напроксен натрію, ібупрофен, диклофенак натрію та мелоксикам. Для розуміння рівня селективності пригнічення досліджуваних речовин до активних центрів ферментів нами була застосована наступна класифікація селективності [17]: IC50 < 0,001 mM (високоселективні); 0,05 > IC50 > 0,001 (середнеселективні); IC50 > 0,05 mM (низькоселективні).

Результати представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Схематична класифікація стандартних протизапальних препаратів разом з компонентами засобу "Аргіклін" на три категорії

№	Сполука	НАДФН-оксиредуктаза	мієлопероксидаза	ксантин оксиредуктаза	Кількість закритого ключового ферменту окислення	
Препарати стандарти						
1.	Індометацин	#	#	✓	3	
2.	Целекоксиб	✓	#	✓	3	
3.	Напроксен натрію	#	#	#	3	
4.	Ібупрофен	□	#	□	1	
5.	Диклофенак натрію	□	□	□	0	
6.	Мелоксікам	✓	□	#	2	
7.	Епігалокатехін-3-О-галат	#	□	#	2	
Компоненти засобу "Аргіклін"						
1.	Антоціани плодів екстракту граната	Ціанідин-3-О-глюкозид	#	#	#	3
2.		Пеларгонідин-3,5-О-диглюкозид	✓	✓	#	3
3.		Дельфінідин-3,5-О-диглюкозид	#	□	#	2
4.	L-аргінін		□	□	□	0
5.	L-цитрулін		□	□	□	0
6.	Міо-інозитол		□	□	□	0
7.	Бетаїн		□	□	□	0

Примітки: ✓ - високо селективні інгібітори, # - середньо селективні інгібітори, □ низько селективні інгібітори

Приклад 3.

Антиоксиданту активність "Аргікліну" у саше була вивчена на 40 білих безпородних щурах-самцях масою 180-220 г, на яких була створена модель гострого запалення, індукованого субплантарною ін'єкцією 0,1 мл 1 % каррагінану (Fluka, Швейцарія) у праву задню лапу щурів.

Методика визначення каталазної активності була наступна: аліквоту сироватки крові 0,02 мл вносили у дві пробірки (1 - дослідна проба, 2 - контрольна проба), потім до дослідної проби додавали 2,0 мл 0,03 % розчину перекису водню, а до контрольної проби - 2,0 мл дистильованої води. Через 10 хвилин до дослідної і контрольної проби додавали 1,0 мл 4 % розчину амонію молібдату і ретельно перемішували. Оптичну щільність дослідженої проби вимірювали при довжині хвилі 410 нм проти контрольної проби. Пробопідготовка холостої проби була наступна: аліквоту дистильованої води 0,02 мл вносили у дві пробірки, потім до першої пробірки додавали 2,0 мл 0,03 % розчину перекису водню, а в другу пробірку - 2,0 мл дистильованої води. Через 10 хвилин до двох пробірок додавали 1,0 мл 4 % розчину амонію молібдату і ретельно перемішували [18]. Активність каталази в сироватці крові розраховували за формулою:

$$E[\text{мкмоль}/(\text{хв} \cdot \text{л})] = \frac{(E_{\text{хол}} - E_{\text{досл}}) \cdot 1(\text{розведення}) \cdot 100}{T(\text{хв}) \cdot 0,02 \cdot 10^{-3} (\text{об'єм внесеної проби}) \cdot 22,2 \cdot 10^3 \text{ ммоль}^{-1} \text{ см}^{-1}}$$

де: E - активність каталази, в мкмоль/(л·хв);

$E_{\text{хол}}$ та $E_{\text{досл}}$ - оптична щільність (екстинція) холостої та дослідної проб;

$0,02 \cdot 10^{-3}$ - об'єм проби (або інша), л;

T - час реакції (хв);

K - коефіцієнт мілімолярної екстинції перекису водню, $22,2 \cdot 10^3 \text{ ммоль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

1 - розведення (якщо є).

Методика визначення ТБК-реактивності: аліквоту сироватки крові 0,25 мл вносили до пробірки для центрифугування, потім додавали 1,8 мл дистильованої води, 0,1 мл 0,5 М HCl і 0,5 мл 15 % розчину трихлороцтової кислоти, та ретельно перемішували скляною паличкою. Центрифугували зразки протягом 15 хвилин при 5000 об./хв. Декантували надосадкову рідину у чисті пробірки і додавали 0,5 мл 0,02 М ТБК розчину. Пробірки з зразками термотестували на водяній бані при температурі 90° С протягом 15 хв і охолоджували пробірки зі зразками під проточною водою. Паралельно готували контрольну пробу: до пробірки додавали 2,0 мл дистильованої води та 0,5 мл 0,02 М ТБК розчину. Оптичну щільність вимірювали при довжині хвилі 532 нм проти контрольної проби [19]. Вміст ТБК-реактивності у сироватці крові розраховували за формулою:

8. Доза еквівалентна сумі фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту.

Приклад 4.

In vitro антиоксиданту активність "Аргікліну" досліджували потенціометричною методикою і FRAP-методикою.

В електрохімічну комірку вносили 50,0 мл медіаторної системи, яка складалася з $K_4[Fe(CN)_6]$ і $K_3[Fe(CN)_6]$ з концентрацією 0,002/0,00002 М, відповідно; 1,0 мл досліджуваного лікарського засобу додавали до електрохімічної комірки [22].

Антиоксиданту активність розраховували на підставі отриманої різниці потенціалів по формулам (1-2) і виражали в молях еквівалентів антиоксидантів на масу сухого залишку (ммоль-екв./ $m_{\text{сух.зали.}}$). Для порівняння антиоксидантної дії були взяті оригінальні препарати: "Квертин" (Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод"), "Карсил" (Акціонерне товариство Софарма), "Диклофенак натрію" (Приватне акціонерне товариство "Фармацевтична фірма "Дарниця"), епігалокатехін-3-О-галат. Досліджуваний засіб "Аргіклін", та препарати порівняння були взяті для аналізу у одній еквімолярній дозі - 0,1 моль/л, у випадку об'єктів які містять екстракти рослин, нами було розрахована концентрація що еквівалентна сумі фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту)

Отримані дані при $n=3$ в кожному досліді обробляли статистично.

$$AOA = \frac{C_{ox} - \alpha \cdot C_{red}}{1 + \alpha} \cdot K_{dil} \cdot 10^3 \frac{m_1}{m_2},$$

$$\alpha = \left(\frac{C_{ox}}{C_{red}} \right) \cdot 10^{\frac{(\Delta E - E_{ethanol})nF}{2,3RT}},$$

де: C_{ox} - концентрація $K_3[Fe(CN)_6]$ в електрохімічній комірці, моль/л;

C_{red} - концентрація $K_4[Fe(CN)_6]$ в електрохімічній комірці, моль/л;

K_{dil} - коефіцієнт розведення;

$E_{ethanol}$ - 0,0546 · C% - 0,0091;

C% - концентрація етанолу;

m_1 - маса сухого залишку екстракту;

m_2 - маса сухого залишку в 1 мл екстракту;

n- кількість електронів в електродній реакції ($n=1$);

F- постійна Фарадея ($F=96485,333$ Кл/моль);

R- універсальна газова стала ($R=8,314$ Дж/моль × K);

T - температура розчину, °K.

Антиоксиданту активність визначали спектрофотометричним методом FRAP методикою, для аналізу використовували свіжоприготовлений розчин FRAP, для цього змішували 10,0 мл ацетатного буфера (pH=3,6), 1,0 мл 10 % розчину заліза (III) хлорид, 1,0 мл розчину 0,01 М 2,4,6-три(2-піридил)-S-триазину (TPTZ) в 0,04 М хлористоводневій кислоті, отриманий розчин FRAP витримували протягом 10 хв при температурі 37° С. До 1,0 мл розчину А додавали 3,0 мл дистильованої води і 1,0 мл розчину FRAP. Суміш витримували протягом 4 хв при температурі 37° С. Вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 593 нм. Компенсаційну рідину готували наступним чином: 1,0 мл розчину А доведений до позначки водою дистильованою у мірної колби ємністю 5,0 мл до мітки. Паралельно вимірювали оптичну густину стандартного розчину епігалокатехіну-3-О-галату (ЕГКГ) [23].

Для порівняння антиоксидантної дії були взяті оригінальні препарати: "Квертин" (Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод"), "Карсил", диклофенак натрію, епігалокатехін-3-О-галат. Досліджуваний засіб "Аргіклін", та препарати порівняння були взяті для аналізу у одній еквімолярній дозі - 0,1 моль/л, у випадку об'єктів які містять екстракти рослин, нами було розрахована концентрація що еквівалентна сумі фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту)

Антиоксиданту активність у мкмоль/мл-екв. ЕГКГ, обчислювали за наступною формулою:

$$AOA = \frac{A \times C \times K_{роз}}{A_{ст}},$$

де:

AOA - антиоксидантна активність, нмоль/мл-екв. ЕГКГ;

A - оптична густина досліджуваного розчину;

C - концентрація стандартного розчину епігалокатехіну-3-О-галату, мкг/мл;

$K_{роз}$ - коефіцієнт розведення;

$A_{ст}$ - оптична густина стандартного розчину епігалокатехіну-3-О-галату.

При дослідженні антиоксидантної активності in vitro результати аналізували за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу з критерієм Тьюкі, де різниці вважали значущими при $p < 0,05$.

Результати представлені у таблиці 3, 4.

Таблиця 3

Антиоксидантна активність засобу "Аргіклін" визначено потенціометричною методикою *in vitro*

Умови досліджу	Доза	ммоль-екв./м _{сух. зал.}
Диклофенак натрію	0,1 моль/л	25,10±0,20
Епігалокатехін-3-О-галат		30,40±0,20
"Квертин"		5,40±0,05
"Карсил"		15,40±0,12
"Аргіклін"		270,70±1,03*

Примітки: Значення представлені як середнє ± стандартне відхилення. Був застосований однофакторний дисперсійний аналіз з *post-hoc* тестом Тьюкі. * означає $p < 0,05$

Таблиця 4

Антиоксидантна активність засобу "Аргіклін" визначено FRAP- методикою *in vitro*

Умови досліджу	Доза	нмоль/мл-екв. ЕГКГ
Диклофенак натрію	0,1 моль/л	30,00±0,30
"Квертин"		5,00±0,05
"Карсил"		10,00±0,10
"Аргіклін"		33,00±0,30*

Примітки: Значення представлені як середнє ± стандартне відхилення. Був застосований однофакторний дисперсійний аналіз з *post-hoc* тестом Тьюкі. * означає $p < 0,05$

Наступним етапом нашого дослідження стало підсумовування отриманих даних, згаданих раніше. Усі досліджувані сполуки були умовно поділені на три категорії (таблиця 1). До першої категорії належали сполуки з високою селективністю до активного центру, до другої - сполуки із середньою та до третьої категорії - з низькою селективністю. Такий підхід до розділення сполук був необхідний для чіткого визначення сполук, що високоефективно взаємодіють з прооксидантними механізмами, а також сполук, що працюють нижче цього рівня. Згідно з отриманими даними, представленими в таблиці 4, можна зробити висновок, що жодна сполука не здатна блокувати всі прооксидантні ферменти високоселективно, тільки комбінація сполук здатна зупинити розвиток окисного процесу. Пеларгонідин-3,5-О-диглюкозид здатна блокувати високоселективно 2 з 3 прооксидантних ферментів. В свою чергу, ціанідин-3-О-глюкозид спроможний середньо селективно інгібувати усі прооксидантні механізми. У випадку дельфінідину-3,5-О-диглюкозиду було визначено, що він є середньо селективним інгібітором до ферменту НАДФН-оксиредуктази і ксантин оксиредуктази. L-аргінін, міо-інозитол і цитрулін мали низьку селективність до всіх прооксидантних ферментів. Таким чином, завдяки комплексному складу засобу "Аргіклін" може інактивувати усі ключові мішені прооксидантних ферментів. (Таблиця 1)

При порівнянні результатів з стандартними препаратами було встановлено, що целекоксиб є високоселективним інгібітором до НАДФН-оксиредуктази і ксантин-оксиредуктази, також індометацин показав високу селективність до ксантин-оксиредуктази і середньо селективність до НАДФН-оксиредуктази і мієлопероксидази. У випадку же напроксену натрію було показано, що він є середньо селективним інгібітором до всіх ферментів та спроможний "закрити" усі механізми окисного стресу. Епігалокатехін-3-О-галат може інгібувати лише два ферменту з трьох, а саме - НАДФН-оксиредуктазу і ксантин-оксиредуктазу. Але найгірший результат селективності показав "золотий стандарт" - диклофенак натрію, який оказався низько селективним інгібітором до всіх ферментів. (Таблиця 1)

Антиоксиданту активність *in vivo* було досліджено шляхом виміру рівня каталази і ТБК-активних продуктів на моделі каррагінанового набряку.

У експериментальних групах "Аргікліну" у дозах 15,0 і 7,5 мг/кг спостерігалось підвищення активності каталази порівняно з групою патології. Рівень каталази у групі "Аргікліну" у дозі 7,5 мг/кг був достовірно ($p < 0,05$) нижче порівняно з прийомом "Аргікліну" у дозі 15,0 мг/кг. Застосування засобу "Аргікліну" у дозі 15,0 мг/кг показав значно вищий рівень каталази, що було статистично значущим ($p < 0,05$) порівняно ніж з групами препаратів порівняння диклофенаком натрію, "Квертином", епігалокатехіном-3-О-галатом і "Карсилом". При порівнянні групи "Аргікліну" у дозі 7,5 мг/кг з групами "Карсил" і "Квертин" спостерігалось значуща різниця, де у групі "Аргіклін" рівень каталази був в рази вище (Таблиця 2)

При дослідженні рівня ТБК-активних продуктів було встановлено, що у досліджуваних групах "Аргікліну" у дозах 15,0 і 7,5 мг/кг спостерігалось зниження значень рівня ТБК-активних продуктів порівняно з групами препаратів порівняння "Квертину", диклофенак натрію, епігалокатехіном-3-О-

галату і "Карсилу". Також, у таблиця 2 було показано, що рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові були нижче на 30 % у групі "Аргікліну" у дозі 15,0 мг/кг, ніж у дозі 7,5 мг/кг. При порівнянні з групою патології і інтакту спостерігалася значуща різниця ($p < 0,05$) порівняно з групами " Аргікліну " у дозі 7,5 і 15,0 мг/кг. (Таблиця 2)

Наступним етапом нашого дослідження стало оцінка антиоксидантної дії засобу "Аргікліну" потенціометричною методикою порівняно з препаратами "Квертин", "Карсил", "Диклофенак натрію" і "золотим стандартом" епігалокатехіном-3-О-галатом у еквімолярній дозі - 0,1 моль/л. Для цього розраховану наважку лікарської форми досліджуваних препаратів ("Квертин" і "Карсил") ми розчинили у воді дистильованій при температурі 90° С в однакових об'ємах, потім відфільтрували приготівлені розчини та довели до мітки тим же розчинником. За результатами дослідження показаними у таблиці 6 було встановлено, що "Аргіклін" має на 91, 89, 98, і 94 % вище рівень антиоксидантної дії, ніж препарати порівняння "Диклофенак натрію", епігалокатехін-3-О-галат, "Квертин" і "Карсил", відповідно. (Таблиця 3)

Далі ми оцінили антиоксидантну дію засобу "Аргіклін" FRAP методикою порівняно з препаратами "Квертин", "Карсил", "Диклофенак натрію" і "золотим стандартом" епігалокатехіном-3-О-галату у еквімолярній дозі - 0,1 моль/л. Для цього розраховану наважку лікарської форми досліджуваних препаратів ("Квертин" і "Карсил") ми розчинили у воді дистильованій при температурі 90 °С в однакових об'ємах, потім відфільтрували приготівлені розчини та довели до мітки тим же розчинником. За результатами дослідження показаними у таблиці 7 було встановлено, що "Аргіклін" мав вище рівень антиоксидантної дії, ніж препарати порівняння "Диклофенак натрію", епігалокатехін-3-О-галат, "Квертин" і "Карсил", відповідно. (Таблиця 4)

Було проведено теоретичне і експериментальне дослідження антиоксидантної активності засобу під умовною назвою "Аргікліну" у формі саше. Відповідно до теоретичних результатів, показано, що завдяки комплексного складу дієтичної добавки "Аргіклін" може інгібувати усі важливі прооксидантні ферменти, при цьому "золотий стандарт" диклофенак натрію не є високоселективним інгібітором до усіх ключових прооксидантних ферментів. На моделях *in vivo* і *in vitro* було встановлено, що дієтична добавка "Аргіклін" активно інгібує утворення вільних радикалів при перекісному окисненні ліпідів і вільних форм кисню. Крім цього, у ході дослідження було знайдено співставлення теоретичних і практичних результатів антиоксидантної активності дієтичної добавки "Аргіклін".

Список використаних джерел

1. Determination of the extraction frequency of green tea leaves by the antioxidant method / O. Y. Maslov et al. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2022. Vol. 20, no. 1(77). P. 28-34. DOI: <https://doi.org/10.24959/opphcj.22.252320> (date of access: 13.09.2025).

2. Antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of the obtained "Cachisept" tablets for resorption in the oral cavity for the treatment and prevention of dental caries / O. Y. Maslov et al. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023. Vol. 16, no. 3. P. 213-216. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.3.285425> (date of access: 13.09.2025).

3. An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation and Neurodegenerative Diseases / D. M. Teleanu et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, no. 11. P. 5938. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23115938> (date of access: 13.09.2025).

4. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future / A. van der Pol et al. *European Journal of Heart Failure*. 2018. Vol. 21, no. 4. P. 425-435. DOI: <https://doi.org/10.1002/ehjhf.1320> (date of access: 13.09.2025).

5. Zhao X., Yuan Z. Anthocyanins from Pomegranate (*Punica granatum* L.) and Their Role in Antioxidant Capacities in Vitro. *Chemistry & Biodiversity*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100399> (date of access: 20.12.2025).

6. Sadowska-Bartosz I., Bartosz G. Antioxidant Activity of Anthocyanins and Anthocyanidins: A Critical Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25, no. 22. P. 12001. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms252212001> (date of access: 20.12.2025).

7. Nutraceutical Potential of Anthocyanins: A Comprehensive Treatise / A. M. Noman et al. *Food Science & Nutrition*. 2025. Vol. 13, no. 5. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.70164> (date of access: 20.12.2025).

8. Joshi M., Schmilovitch Z., Ginzberg I. Pomegranate Fruit Growth and Skin Characteristics in Hot and Dry Climate. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Vol. 12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.725479> (date of access: 20.12.2025).

9. Analysis of composition and antimicrobial activity of pomegranate (*punica granatum*) fruit extract against gram-negative multi-drug resistant bacteria from clinical isolates / O. Maslov et al. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*. 2025. P. e11389. DOI: <https://doi.org/10.55251/jmbfs.11389> (date of access: 20.12.2025).

10. Спосіб одержання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю: пат. 59681 А Україна: А61К 36/87, А61К 127/00, С11В 1/10, А61Р 29/00, А61Р 39/06. № 2002119121; заявл. 15.11.2002; опубл. 15.09.2003, Бюл. № 9. 8 с.

11. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з антиоксидантною та протизапальною дією: пат. 86502 Україна: А61К 36/899, А61К 127/00, А61Р 7/10, А61Р 11/02, А61Р 17/08, А61Р 39/06. № а200708446; заявл. 23.07.2007; опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8. 8 с.
12. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною дією з листя зеленого чаю: пат. 150496 Україна: А61К 127/00, А61Р 39/06, А61К 36/82. № u202105657; заявл. 07.10.2021; опубл. 24.02.2022, Бюл. № 8. 3 с.
13. Morris G. M., Huey R., Olson A. J. Using AutoDock for Ligand-Receptor Docking. *Current Protocols in Bioinformatics*. 2008. Vol. 24, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24> (date of access: 06.09.2025).
14. Updated resources for exploring experimentally-determined pdb structures and computed structure models at the RCSB protein data bank / S. Burley et al. *Nucleic Acids Research*. 2025. Vol.5, № D1 P.D564—D574. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1091> (date of access: 06.09.2025).
15. Tian W, Chen C, Lei X, Zhao J. CASTp 3.0: computed atlas of surface topography of proteins. *Nucleic Acids Research*. 2025. Vol. 46, № W1. P. W363-W367. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky473>
16. PubChem 2025 update/ S. Kim et al. *Nucleic Acids Research*. 2025. Vol. 53, № D1. P. D1516-D1525. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1059>
17. Kondža M., Brizić I., Jokić S. Flavonoids as CYP3A4 Inhibitors In Vitro. *Biomedicines*. 2024. Vol. 12, no. 3. P. 644. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines12030644> (date of access: 06.09.2025).
18. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*. 1991. Vol. 196, no. 2-3. P. 143-151. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(91\)90067-m](https://doi.org/10.1016/0009-8981(91)90067-m) (date of access: 13.09.2025).
19. Del Rio D., Stewart A. J., Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2005. Vol. 15, no. 4. P. 316-328. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.05.003> (date of access: 13.09.2025).
20. European Food Safety Authority. European Food Safety Authority. URL: <https://www.efsa.europa.eu/en> (date of access: 13.09.2025).
21. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. OJEU2010; L276: 33-79.
22. Study and evaluation antioxidant activity of dietary supplements with green tea extract / O. Y. Maslov et al. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2021. Vol. 14, no. 2. P. 215-219. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.233306> (date of access: 13.09.2025).
23. Griffin S. P., Bhagooli R. Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 2004. Vol. 302, no. 2. P. 201-211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2003.10.008> (date of access: 20.12.2025).